Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i.Westf.
Direktor: Professor Dr. H. Freund

Beeinflussung der Methylenblauentfärbung durch die alkalischen Erden.

Jnaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde der hohen medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. W.

vorgelegt von:

Walter Fillinger, Zahnarzt, Warstein i.W.

1932
HENNECKEN-DRUCKEREI, WARSTEIN

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster i.Westf.
Direktor: Professor Dr. H. Freund

Beeinflussung der Methylenblauentfärbung durch die alkalischen Erden.

Jnaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der hohen medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. W.

vorgèlegt von:
Walter Fillinger, Zahnarzt, Warstein i.W.

1932
HENNECKEN-DRUCKEREI, WARSTEIN

Dekan: Professor Dr. Herzog
Referent: Professor Dr. Freund



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. Westf.

Beeinflussung der Methylenblauentfärbung dürch die alkalischen Erden.

Die pharmakologischen Wirkungen der Erdalkalien sind in erster Linie in ihren Beziehungen zum Ca untersucht worden. Die eine Fragestellung betraf die Vertretbarkeit des Ca durch andere Erdalkali-Jonen in künstlichen Nährlösungen. Dabei war im wesentlichen nur das Sr geeignet Ca-Jonen zu vertreten. Bei Mg und Ba dagegen traten an den meisten lebenden Objekten, ebenso wie am Gesamttier, spezifische Giftwirkungen auf. Bekanntlich übt das Mg lähmende Wirkungen aus auf Erregbarkeit der Muskulatur und auf das Zentralnervensystem — Wirkungen, welche durch einen Ueberschuß von Ca vollständig aufgehoben werden können. Zwischen Ca und Mg besteht also ein Antagonismus. Die Ba-Wirkung ist besonders gegen die Muskulatur und zwar vor allem die glatte gerichtet: es ist das stärkste Kontrakturgift der glatten Muskulatur. Durch Ca ist diese Wirkung nicht aufhebbar. Die Sr-Wirkung ist bisher wenig untersucht. In der italienischen Literatur zeigen experimentelle Beobachtungen und histologische Befunde am Zentralnervensystem deutliche Schädigungen, die sehr leicht reversibel sind. Soweit bisher bekannt, hat die Sr-Wirkung am Nervensystem Aehnlichkeiten mit der Mg-Wirkung. Hier ist ein Antagonismus gegen Ca nicht bekannt.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war, die Beeinflussung einiger Fermentreaktionen, die für den intermediären Stoffwechsel der Muskulatur bedeutsam sind, durch die Erdalkalien zu untersuchen. Diese Untersuchungen sollen eine Ergänzung darstellen für die Befunde, die Strickling bei der Untersuchung des Kohlehydratstoffwechsels vieler überlebender Gewebe bei Zusatz der Erdalkalien erhoben hat. Ueber diese noch nicht abgeschlossenen Versuche Stricklings wird an anderer Stelle berichtet werden.

Methodik.

Als Maß für die Größe der Dehydrierungsvorgänge diente die Thunbergsche Methylenblaumethode, die bekanntlich eine Anwendung der Wielandschen Dehydrierungstheorie ist. Auf Einzelheiten der Versuchstechnik braucht hier nicht näher eingegangen zu werden.

Als Versuchsmaterial kam die Skelett- und Herzmuskulatur von Hund, Kaninchen, Katze und Frosch zur Anwendung. Je nach der Fragestellung wurde ungewaschenes oder gewaschenes Gewebe benutzt. Zum Auswaschen wurde das zerkleinerte Gewebe 20 Minuten lang kräftig mit destilliertem Wasser geschüttelt, dann durch ein Tuch

scharf abgepreßt und noch zweimal in derselben Weise behandelt. Dadurch werden die Hauptmenge des im Gewebe enthaltenen Nährmaterials, der Donatorsubstanzen nach Wieland, und die meisten Fermente entfernt, so z. B. die Milchsäuredehydrase. Erhalten bleiben u. a. die Fermente, die den Abbau von Hexose-Diphosphorsäure, Bernsteinsäure und Glyzerinphosphorsäure vermitteln.

Die Konzentration der bei den Versuchen verwendeten Methylenblaulösung betrug 1 : 2500. Da das zerschnittene Gewebe infolge seines hohen Milchsäuregehaltes sauer reagiert, bei saurer Reaktion die Fermentreaktionen aber verzögert sind, wurde das Methylenblau in einer Phosphatpufferlösung von der Wasserstoffzahl PH = 7,0 und einem Phosphatgehalt von m/7,5—PO_4 gelöst. Dadurch wird eine Säurewirkung vermieden.

Untersucht wurde der Einfluß der alkalischen Erden auf die Methylenblauentfärbung. In allen Fällen wurden die Chloride verwendet: $MgCl_2 . 6$ aq, $CaCl_2$, $SrCl_2 . 6$ aq und $BaCl_2 . 2$ aq. Die Stammlösungen der Salze waren 1 prozentig. Aus ihnen wurden die weiteren Verdünnungen, Zehnerpotenzen, hergestellt, indem jeweils 10 ccm der konzentrierten Lösung mit 90 ccm dest. H_20 verdünnt wurden.

Die Versuchsansätze hatten folgende Zusammensetzung: 0,2 g Gewebe, 0,4 ccm Methylenblaulösung und 0,6 ccm Flüssigkeit. Kontrollversuch 1 enthielt neben 0,2 g Gewebe und 0,4 ccm Methylenblaulösung, die in allen Versuchen stets gleich blieben, 0,6 ccm H_20. Um den Einfluß zugesetzter Nährstoffe zu untersuchen, wurden 0,3 ccm der 1prozentigen Lösungen der Na-Salze von Milchsäure, Bernsteinsäure, Glyzerinphosphorsäure, Hexosediphosphorsäure und 1prozentige Glukoselösung und 0,3 ccm H_20 hinzugefügt (Kontrollversuch 2).

Die übrigen Versuche, die mit den Kontrollversuchen 1 oder 2 verglichen wurden, enthielten 0,3 ccm der verschiedenen Konzentrationen, der Erdalkalienlösungen entweder mit 0,3 ccm H_20 oder 0,3 ccm der Lösungen der Donatorsubstanzen.

Die Versuchsansätze wurden in Reagensröhrchen gebracht, welche über dem Bunsenbrennner in der Mitte zu einer Kapillare ausgezogen wurden. Die so vorbereiteten Röhrchen wurden an einer Oelpumpe evakuiert, die Kapillaren zugeschmolzen und in den Thermostaten mit Wasser von 38° Celsius gebracht. Um ein Hochschießen der Reagensröhrchen zu verhindern, wurden auf den Hals der Röhrchen durchlochte Bleiplatten geschoben. Die Dauer der Methylenblauentfärbung wurde in Minuten angegeben.

Versuchsresultate.

Versuchsserie 1.

In der ersten Versuchsserie wurde unausgewaschener Muskel, und zwar ausschließlich Herzmuskel vom Kaninchen, benutzt. Die Brennstoffe, die im Gewebe vorhanden sind, wirken als Wasserstoffdonatoren. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tabelle 1

Versuchsansätze	Mg		Ca		Sr		Ba	
	Entfärbungszeiten in Minuten							
1. Kontrollversuch	19	21	8	12	36	42	46	50
2. 1/1000 000	18	20	5	7	32	37	41	37
3. 1/100 000	18	17	9	11	28	32	38	35
4. 1/10 000	16	14	12	15	26	29	30	27
5. 1/1000	11	10	18	21	23	25	29	29
Organ	Unausgewaschener Herzmuskel							
Versuchstier	Kaninchen							

Mg, Sr und Ba verhalten sich gleich. Sie beschleunigen die Methylenblauentfärbung und zwar am stärksten bei hohen Konzentrationen. Schon bei sehr niedrigen Konzentrationen 1/1 000 000 ist eine deutliche Verkürzung der Methylenblauentfärbung feststellbar. Ca verhält sich vollkommen anders. Die Wirkungsrichtung ist genau umgekehrt. Nur die stärksten Verdünnungen fördern. Die Förderungswirkung schlägt bei 1/10 000 über den Interferenzpunkt bei 1/100 000, bei dem die Entfärbungszeit dem Kontrollversuch entspricht, in eine Hemmung um, die mit zunehmender Konzentration immer deutlicher wird.

Meine Versuche stimmen mit Versuchen Ahlgrens[1]) über den Einfluß von Ca auf die Methylenblauentfärbung überein. Die übrigen alkalischen Erden wurden in seinen Versuchen nicht berücksichtigt. Die Versuche mit Ca entsprechen der Arndt-Schulzschen Regel, die besagt, daß kleine Reize die Lebenstätigkeit anfachen, mittelstarke fördern, starke hemmen, stärkste sie aufheben.

Versuchsserie 2.

In den Versuchen der Versuchsserie 1 wurde die Beeinflussung der Methylenblauentfärbung durch die im Gewebe präformierten Donatorsubstanzen untersucht, die die verschiedenste Zusammensetzung haben und zum Teil noch unbekannt sind. Von besonderer Bedeutung ist das Verhalten der Milchsäure, des Endproduktes des anaeroben Kohlehydratstoffwechsels. Um den Abbau des im Gewebe enthaltenen Brennmaterials zurückzudrängen, wurde zu den Versuchen Laktat hinzugegeben und so die Abbaubedingungen für die Milchsäure möglichst günstig gestaltet.

1) G. Ahlgren; Skandinav. Archiv für Physiologie 1925 Bd. 47 (Suppl.) S. 104.

Tabelle 2 (Laktatzusatz)

Versuchsansätze	Mg		Ca		Sr		Ba	
	Entfärbungszeiten in Minuten							
1. Kontrollversuch	19	24	36	45	22	22	18	43
2. Laktat + 1/1000 000	17	21	36	45	24	25	24	44
3. „ 1/100 000	26	30	35	36	19	19	33	50
4. „ 1/10 000	22	27	45	41	16	16	21	34
5. „ 1/1000	17	20	47	44	14	12	19	30
Organ	Unausgewaschener Skelettmuskel							
Versuchstier	Kaninchen		Frosch		Kaninchen		Frosch	

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 2 ersichtlich. Die Versuche sagen, daß die Beeinflussung der Methylenblauentfärbung durch Laktat bei Gegenwart der alkalischen Erden gegenüber den Versuchen ohne Zusatz eines fremden Wasserstoffdonators (Tabelle 1) von Grund auf verändert ist. Daraus geht hervor, daß bei der Bestimmung der Methylenblaureduktion durch die Summe der im Gewebe enthaltenen Brennstoffe der auf die Milchsäure entfallende Anteil nur gering sein kann, weil sonst die Wirkungsrichtung der Erdalkalien sich durch Laktatzusatz nicht ändern dürfte.

Mg, Sr und Ba wirken auf die Methylenblauentfärbung in der gleichen Richtung, und zwar hemmend bei starken Verdünnungen. Bei Mg und Ba liegt das Maximum der Hemmung bei einem Zusatz von 1/100 000, bei Sr bei 1/1 000 000. Von diesem Maximum der Hemmung ab erfolgt bei Mg, Sr und Ba bei zunehmender Konzentration der Salze eine Beschleunigung, die bei 1/1000 bei Sr sehr stark, bei Mg nur angedeutet und bei Ba gegenüber dem Kontrollvesruch nur unsicher ist. Mg 1/1 000 000 verhält sich wie 1/1000 und zwar beschleunigend, während Ba 1/1 000 000 hemmt.

Ganz anders ist der Einfluß von Ca. Im Gegensatz zu Mg, Sr, Ba wird die Methylenblauentfärbung bei einem Zusatz von 1/100 000 gefördert, während in höheren Konzentrationen entweder gehemmt oder nicht beeinflußt.

Die Reaktionskurve verläuft bei Mg, Sr und Ba bei Zusatz von Laktat wellenförmig. Die Strontiumwirkung folgt ganz der Arndt-Schulzschen Regel, indem die Wirkungsrichtung bei großen und kleinen Dosen sich umkehrt.

Versuchsserie 3.

Zur Untersuchung der Beeinflussung der Methylenblauentfärbung durch Glukose ist Skelettmuskel ungeeignet, weil die α—β Glukose von Skelettmuskel nicht ohne weiteres verwertet wird. Anders ver-

hält sich Herzmuskulatur, die vorwiegend α— Glukose zur Energielieferung heranzieht. Die Glukose wird nicht direkt dehydriert, sondern erst nach Spaltung des Hexosemoleküls in Verbindungen mit 3 Kohlenstoffatomen. Als Spaltungsprodukt der Kohlehydrate mit 3 C-Atomen wurde das Methylglyoxal nachgewiesen. Das Methylglyoxal wird bei O_2 = Mangel in Milchsäure überführt. Bei Gegenwart von O_2 erfolgt Abbau zu Brenztraubensäure, desgleichen bei Gegenwart von anderen Wasserstoffakzeptoren wie z. B. Methylenblau. Die Glukoseabbauversuche wurden mit Herzmuskel von Kaninchen und Hund angestellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3 (Glukosezusatz)

Versuchsansätze	Mg		Ca		Sr		Ba	
	Entfärbungszeiten in Minuten							
1. Kontrollversuch	19	29	19	24	18	23	19	18
2. Gluk.+ 1/1000 000	20	30	21	26	17	22	34	33
3. „ 1/100 000	23	34	24	28	32	35	35	36
4. „ 1/10 000	18	28	20	24	24	26	40	42
5. „ 1/1000	15	24	18	21	14	15	30	31
Organ	Unausgewaschener Herzmuskel							
Versuchstier	Kaninchen						Hund	

Meine Versuche haben den Nachweis erbracht, daß Mg, Ca, Sr den Glukoseabbau in der gleichen Weise, gemessen an der Methylenblauentfärbung, beeinflussen. Ca verhält sich also hier synergisch, nicht antagonistisch gegenüber Mg und Sr. Das Wirkungsbild ist bei den drei Erdalkalien Mg, Ca und Sr ganz einheitlich. Bei einem Zusatz von 1/100 000 tritt eine Hemmung, am stärksten bei Sr auf, die bei Zusatz von 1/1000 einer Förderung Platz macht. Ba auf der anderen Seite hemmt bei jeder Konzentration, und zwar am stärksten bei einem Zusatz von 1/10 000, selbst bei 1/1 000 000 ist die Hemmung noch sehr stark ausgeprägt. Die Einwirkung der Erdalkalien Mg, Ca, Sr auf den Glukoseabbau im Herzmuskel vollzieht sich ganz im Sinne der Arndt-Schulzeschen Regel.

Versuchsserie 4.

Die Versuche mit ungewaschenem Gewebe haben den bemerkenswerten Nachweis erbracht, daß die Erdalkalien auf die einzelnen Fermentsysteme des Gewebes in ganz verschiedener Weise einwirken. Das einzelne Erdalkalimetall beschleunigt die Dehydrierung der einen,

hemmt auf der anderen Seite die Dehydrierung einer anderen Donatorsubstanz. In keinem Fall wirkt ein Erdalkalimetall nur beschleunigend oder hemmend auf alle Dehydrierungen.

Bei der Vielheit der im Gewebe wirksamen Fermente erhält man nur dann übersichtliche Versuchsbedingungen, wenn nur ein einzelnes Fermentsystem getrennt ohne störende Beeinflussung durch andere zur Untersuchung gebracht wird. Das gelingt durch starkes Auswaschen des Gewebes mit Wasser. Dadurch werden die im Gewebe enthaltenen Brennstoffe fast vollständig entfernt, desgleichen die meisten Fermente. Ein derart vorbehandeltes Gewebe hat das Vermögen, O_2 aufzunehmen oder Methylenblau zu entfärben eingebüßt. Bekanntlich ist das Vermögen des Gewebes Methylenblau zu entfärben daran gebunden, daß einmal abbaufähige Stoffe und ferner das spezifisch eingestellte Ferment entsprechend vorhanden sind. Beim Fehlen einer der beiden Komponenten kann keine Entfärbung des Methylenblaus erfolgen.

Im Folgenden wurden die Na-Salze von Bernsteinsäure, Hexosediphosphorsäure und Glyzerinphosphorsäure auf ihr Vermögen untersucht, im gewaschenen Muskel Methylenblau zu der farblosen Leukobase zu reduzieren. Bekanntlich geht dabei, wie Hahn und Haarmann[2]) dartun konnten, die Bernsteinsäure in Fumarsäure über, und Hexosediphosphorsäure in Brenztraubensäure.- Glyzerinphosphorsäure wird dehydriert, nicht aber, wie im ungewaschenen Muskel, in Brenztraubensäure überführt. In Tabelle 4 sind die Ergebnisse mit Bernsteinsäure als H_2-Donator zusammengestellt.

Tabelle 4 (Zusatz von Bernsteins. Natrium)

Versuchsansätze	Mg		Ca		Sr		Ba	
	Entfärbungszeiten in Minuten							
1. Kontrollversuch	67	78	77	25	31	34	32	26
2. Bernsteins. Natr. + 1/1000 100	46	51	80	27	29	31	23	24
3. „ 1/100 100	59	57	103	28	26	29	27	25
4. „ 1/10 100	59	65	124	30	24	28	29	26
5. „ 1/1000	64	72	129	33	22	27	31	27
Organ	Ausgewaschener Skelettmuskel							
Versuchstier	Katze		Kaninchen					

Mg und Ba beeinflussen den Abbau der Bernsteinsäure in der gleichen Weise, und zwar wirken die stärksten Verdünnungen stark beschleunigend. Mit zunehmender Konzentration von Mg und Ba wird die Methylenblauentfärbung langsam, aber nicht zu einer Hemmung. Sr verhält sich in jedem Punkte genau umgekehrt. Ca wiederum hemmt selbst in den stärksten Verdünnungen. Bei steigender Konzentration wird die Hemmung immer stärker.

---

2) Hahn und Haarmann: Z. f. Biol. 87, 1928, 107; 89 1929, 159; 90, 1930, 231.

Versuchsserie 5.

Tabelle 5 (Zus. von Hexosediphosphors. Natrium)

Versuchsansätze	Mg		Ca		Sr		Ba	
	Entfärbungszeiten in Minuten							
1. Kontrollversuch	19	19	21	13	25	35	19	24
2. Hexosedipn. Natr. + 1/1000 000	14	14	23	16	24	34	19	19
3. „ 1/100 000	15	15	25	17	26	36	17	20
4. „ 1/10 000	17	16	26	19	28	38	18	21
5. „ 1/1000	20	18	28	22	30	39	19	22
Organ	Ausgewaschener Skelettmuskel							
Versuchstier	Kaninchen							

Die Beeinflussung des Abbaues von Hexosediphosphorsäure (Tabelle 5) läuft im allgemeinen dem Bernsteinsäureabbau parallel. Das gilt aber nur für Mg, Ca und Ba. Sr, das die Bernsteinsäuredehydrierung aktiviert, hemmt den Abbau der Hexosediphosphorsäure in genau der gleichen Weise, wie Ca. Hier wirken also Ca und Sr einerseits und Mg und Ba andererseits in der gleichen Richtung.

Versuchsserie 6.

Tabelle 6 (Zus. von Glyzerinphosphors. Natrium)

Versuchsansätze	Mg		Ca		Sr		Ba	
	Entfärbungszeiten in Minuten							
1. Kontrollversuche	46	43	11	16	14	13	12	14
2. Glyzerinph. Natr. + 1/1000 000	32	29	13	17	14	13	12	15
3. „ 1/100 000	35	31	15	17	14	13	13	15
4. „ 1/10 000	37	32	14	18	14	13	14	16
5. „ 1/1000	38	36	21	19	13	13	15	17
Organ	Ausgewaschener Skelettmuskel							
Versuchstier	Katze		Kaninchen					

Ein anderes Wirkungsbild zeigt die Dehydrierung der Glyzerinphosphorsäure unter der Einwirkung der Erdalkalien. Hier übt nur Mg einen beschleunigenden Einfluß aus, der in den verdünntesten Lösungen am ausgeprägtesten ist und bei zunehmender Konzentration abfällt, ohne jedoch in eine Hemmung überzugehen. Ca und Ba verzögern die Methylenblaureduktion bereits bei sehr niedrigen Konzentrationen, in stärkerer Lösung besonders das Ca ganz erheblich. Das Sr wiederum läßt in allen Stärkegraden den Dehydrierungsprozeß der Glyzerinphosphorsäure unbeeinflußt.

Versuchsserie 7.

Tabelle 7 (Zusatz von Kochsaft)

Versuchsansätze	Mg		Ca		Sr		Ba	
	Entfärbungszeiten in Minuten							
1. Kontrollversuch	26	27	31	30	~29	31	27	25
2. Kochsaft + 1/1000 000	33	31	28	26	38	42	31	30
3. „ 1/100 000	38	39	34	31	33	36	36	38
4. „ 1/10 000	34	35	37	35	32	34	32	32
5. „ 1/1000	32	33	42	38	30	33	28	25
Organ	Ausgewaschener Skelettmuskel							
Versuchstier	Kaninchen							

Bekanntlich wird das durch starkes Auswaschen des Gewebes mit H_2O verloren gegangene Vermögen, Sauerstoff aufzunehmen durch Zusatz von Kochsaft, der durch Auskochen des Gewebes mit H_2O gewonnen wird, wieder hergestellt.

Diese reaktivierte Atmung ist ungefähr so groß, wie die ursprüngliche Atmung des frischen Gewebes, obgleich die meisten der im Gewebe vorhandenen Brennstoffe wegen Fehlen der Fermente, so z. B. der Milchsäuredehydrase, nicht mehr abgebaut werden. Durch Ausfall der durch das Auswaschen entfernten Fermente arbeiten die intakt gebliebenen Fermentsysteme schneller, so daß der Endeffekt, gemessen an der O_2-Zehrung fast der gleiche ist, wie beim frischen Gewebe. Zu den Versuchen wurde 0,3 ccm Kochsaft gefügt, der durch 3 Minuten langes Auskochen von 1 Teil frischem Muskelgewebe mit 2 Teilen H_2O gewonnen wurde.

Die Versuchsergebnisse (Tabelle 7) zeigen gegenüber den Versuchen mit ungewaschenem Muskel ohne Zusatz eines fremden Wasserstoffdonators (Tabelle 1) erhebliche Unterschiede. Während bei ungewaschenem Gewebe Mg, Sr und Ba mit zunehmender Konzentration

immer mehr fördert, kommt es bei gewaschenem Muskel nach Zusatz von Kochsaft bei Mg, Sr und Ba überhaupt zu keiner Verkürzung der Methylenblauentfärbung, also zu keiner Steigerung der Dehydrierungsvorgänge, sondern zu einer Hemmung, die erst bei stärkerer Konzentration wieder geringer wird. Ca fördert nur in stärkster Verdünnung 1/1 000 000; bereits bei 1/100 000 ist die Hemmung gut sichtbar.

Zusammenfassung.

Mittels der Thunbergschen Methylenblaumethode wurde die Beeinflussung der Dehydrierungsvorgänge durch die alkalischen Erden untersucht. Die Dehydrierung der Milchsäure, der Abbau der Glukose, der Hexosediphosphorsäure, der Bernsteinsäure und der Glyzerinphosphorsäure werden durch die alkalischen Erden stark beeinflußt. Man muß zwischen hohen und niedrigen Konzentrationen unterscheiden, die oft in ganz verschiedener Richtung wirken. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 übersichtlich zusammengefaßt.

Tabelle 8 (Übersichtstabelle)

	Mg		Ca		Sr		Ba	
	verd.	konz.	verd.	konz.	verd.	konz.	verd.	konz.
Unausgewaschener Muskel								
1. ohne Zusatz	∅	++	++	−−	+	++	+	++
2. Laktat	−−	+	+	−−	−	++	−−	+
3. Glukose	−	+	−	+	−	+	−	−−
Ausgewaschener Muskel								
1. Bernsteinsaures Natrium	++	∅	−	−−	+	++	+	∅
2. Hexosediphosphor Natrium	+	∅	−	−−	∅	−	+	∅
3. Glyzerinphosphorsaures Natrium	++	+	−	−−	∅	∅	∅	−
4. Kochsaft	−−	−	+	−−	−−	∅	−−	∅

\+ fördert schwach − hemmt schwach ∅ unbeeinflußt
++ fördert stark −− hemmt stark